

PCT/JP2004/004601

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

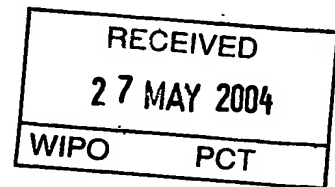
31.3.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 3 月 3 1 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 0 9 4 5 0 5
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 0 9 4 5 0 5]



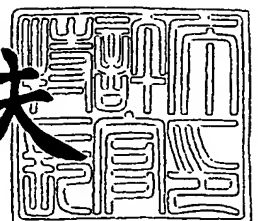
出 願 人 協和醗酵工業株式会社
Applicant(s):

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 5 月 1 3 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 9 7 2 1

【書類名】 特許願

【整理番号】 H15-0344K7

【提出日】 平成15年 3月31日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 31/343 ACD
A61K 31/357 ACD
A61P 11/00

【発明者】

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町一丁目 6 番 1 号 協和醗酵工業株式会社 本社内

【氏名】 大島 悦男

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県駿東郡長泉町下土狩 1 1 8 8 協和醗酵工業株式会社 医薬総合研究所内

【氏名】 真部 治彦

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県駿東郡長泉町下土狩 1 1 8 8 協和醗酵工業株式会社 医薬総合研究所内

【氏名】 三重 元弥

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県駿東郡長泉町下土狩 1 1 8 8 協和醗酵工業株式会社 医薬総合研究所内

【氏名】 田原 晴信

【発明者】

【住所又は居所】 東京都町田市旭町 3 丁目 6 番 6 号 協和醗酵工業株式会社 東京研究所内

【氏名】 山口 和夫

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県駿東郡長泉町下土狩 1 1 8 8 協和醗酵工業株式会社 医薬総合研究所内

【氏名】 石川 康裕

【特許出願人】

【識別番号】 000001029

【氏名又は名称】 協和醗酵工業株式会社

【代表者】 平田 正

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008187

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 気道内投与剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 気道内投与された場合のホスホジエステラーゼ (PDE) IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して 350 倍以上となる該 PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

【請求項 2】 気道内投与された場合の PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して 500 倍以上となる該 PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

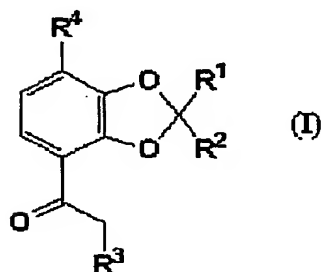
【請求項 3】 気道内投与された場合の PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して 1000 倍以上となる該 PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

【請求項 4】 気道内投与された場合の PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して 2000 倍以上となる該 PDE IV 阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

【請求項 5】 PDE IV 阻害作用を有する化合物が、ベンゾフラン誘導体または 1, 3-ベンゾジオキソール誘導体である請求項 1～4 のいずれかに記載の気道内投与剤。

【請求項 6】 PDE IV 阻害作用を有する化合物が、式 (I)

【化 1】

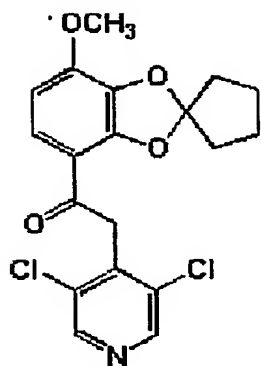


(式中、 R^1 および R^2 は同一または異なって低級アルキルを表すか、または R^1 と R^2 が隣接する炭素原子と一緒になって飽和炭素環を形成し、 R^3 は置換もしくは非置換の芳香族複素環基を表し、 R^4 はヒドロキシまたは低級アルコキシを表す)で表される化合物である請求項1～4のいずれかに記載の気道内投与剤。

【請求項7】 R^3 が置換もしくは非置換のピリジルである請求項6記載の気道内投与剤。

【請求項8】 PDEIV阻害作用を有する化合物が、

【化2】



で表される7-[2-(3,5-ジクロロ-4-ピリジル)-1-オキシエチル]-4-メトキシスプロ[1,3-ベンゾジオキソール-2,1'-シクロペントン]である請求項1記載の気道内投与剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ホスホジエステラーゼ (PDE) IV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有するPDEIV阻害剤 (以下、PDEIV阻害剤という) は、呼吸器疾患に有用であることが知られており、例えば以下の報告がなされている。

(i) BNラットにおいて、PDEIV阻害剤は、抗原で誘発された肺への好酸球の浸潤を抑制する [ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・アンド・エクスペリメンタル・セラピューティックス(J. Pharmacol. Exp. Ther.)、297巻、280-290ページ(2001年)、バイオオーガニック・アンド・メディシナル・ケミストリー・レターズ(Bioorg. & Med. Chem. Lett.)、8巻、3229-3234ページ(1998年)、ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー(Br. J. Pharmacol.)、113巻、1423-1431ページ(1994年)]。

(ii) BNラットにおいて、PDEIV阻害剤は、抗原で誘発された気道狭窄を抑制する [ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・アンド・エクスペリメンタル・セラピューティックス(J. Pharmacol. Exp. Ther.)、297巻、280-290ページ(2001年)、ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー(Br. J. Pharmacol.)、113巻、1423-1431ページ(1994年)]。

【0003】

また、PDEIV阻害剤の副作用としては、例えば嘔吐等の消化器に対する影響が知られており、以下の報告がなされている。

(i) PDEIV阻害剤は、ラットの胃酸分泌を亢進する [ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・アンド・エクスペリメンタル・セラピューティックス(J. Pharmacol. Exp. Ther.)、292巻、647-653ページ(2000年)]。

(ii) PDEIV阻害剤は、ラットの胃排出運動を抑制する [バイオオーガニック・アンド・メディシナル・ケミストリー・レターズ(Bioorg. & Med. Chem. Lett.)、12巻、653-658ページ(2002年)]。

(iii) PDEIV阻害剤は、経口投与または静脈内投与により、イヌの嘔吐を引き起こす [ユーロピアン・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー(Eur. J. Pharmacol.)、286巻、281-290ページ(1995年)、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー(J. Med. Chem.)、42巻、1088-1099ページ(1999年)、同42巻、4216-4223ページ(1998年)、ラボラトリー・アニマル・サイエンス(Lab. Anim. Sci.)、45巻、647-651ページ(1995年)]。

(iv) PDEIV阻害剤は、経口投与または腹腔内投与により、スunksの嘔吐を引き起こす [ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー(J. Med. Chem.)、4

0巻、3248-3253ページ(1997年)]。

【0004】

以上のことから、PDEIV阻害剤において、気道系への薬理効果と消化器系への薬理効果を分離することが必要と認識されている。

一方、PDEIV阻害作用を有するベンゾフラン誘導体、1, 3-ベンゾジオキソール誘導体等、例えば7-[2-(3, 5-ジクロロ-4-ピリジル)-1-オキソエチル]-4-メトキシスピロ[1, 3-ベンゾジオキソール-2, 1'-シクロペンタン] またはその薬理学的に許容される塩が知られている(特許文献1参照)。

【0005】

【特許文献1】

国際公開第96/36624号パンフレット

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有し、かつ気道系への薬理効果と消化器系への薬理効果の分離が可能な気道内投与剤を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明は、以下の(1)～(8)に関する。

(1) 気道内投与された場合のホスホジエステラーゼ(PDE) IV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して350倍以上となる該PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

(2) 気道内投与された場合のPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して500倍以上となる該PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

(3) 気道内投与された場合のPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学

的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して1000倍以上となる該PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

【0008】

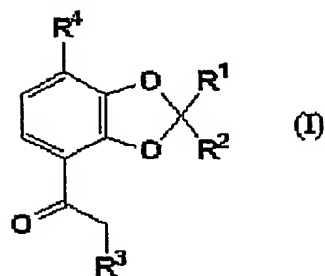
(4) 気道内投与された場合のPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して2000倍以上となる該PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤。

(5) PDEIV阻害作用を有する化合物が、ベンゾフラン誘導体または1, 3-ベンゾジオキソール誘導体である上記(1)～(4)のいずれかに記載の気道内投与剤。

(6) PDEIV阻害作用を有する化合物が、式(I)

【0009】

【化3】



【0010】

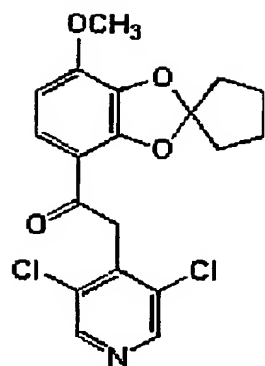
(式中、 R^1 および R^2 は同一または異なって低級アルキルを表すか、または R^1 と R^2 が隣接する炭素原子と一緒にあって飽和炭素環を形成し、 R^3 は置換もしくは非置換の芳香族複素環基を表し、 R^4 はヒドロキシまたは低級アルコキシを表す)で表される化合物である上記(1)～(4)のいずれかに記載の気道内投与剤。

(7) R^3 が置換もしくは非置換のピリジルである上記(6)記載の気道内投与剤。

(8) PDEIV阻害作用を有する化合物が、

【0011】

【化 4】



【0012】

で表される 7-[2-(3, 5-ジクロロ-4-ピリジル)-1-オキシエチル]-4-メトキシスピロ[1, 3-ベンゾジオキソール-2, 1'-シクロペンタン]である上記(1)記載の気道内投与剤。

【0013】

【発明の実施の形態】

本明細書において、気道系とは、呼吸に関わるすべての器官を意味し、具体的には鼻腔、副鼻腔、口腔、咽頭、扁桃、気管、気管支、肺胞等が挙げられる。また、それらに付随する血管系も包含される。

本発明の気道内投与剤により例えば呼吸器疾患の治療が可能であり、該呼吸器疾患の例としては、例えば気管支平滑筋の収縮を伴う呼吸器疾患、気道血管系収縮を伴う呼吸器疾患、炎症を伴う呼吸器疾患、粘液分泌を伴う呼吸器疾患、気道壁の可逆的または不可逆的な組織的変性を伴う呼吸器疾患、気道血管系の可逆的または不可逆的な組織的変性を伴う呼吸器疾患、肺胞の可逆的または不可逆的な変性を伴う呼吸器疾患、鼻腔の可逆的または不可逆的な組織的変性を伴う呼吸器疾患、副鼻腔の可逆的または不可逆的な組織的変性を伴う呼吸器疾患等が挙げられ、より具体的には、気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、肺気腫、慢性気管支炎、肺繊維症、肺高血圧症、好酸球性肺炎、アレルギー性鼻炎、好酸球性副鼻腔炎、慢性または急性副鼻腔炎、咽頭炎、扁桃炎等が挙げられる。

【0014】

本発明の気道内投与剤の気道内投与の方法としては、例えば気道内注入、気道

内吸入等が挙げられ、より具体的な処方形態としては、例えば点鼻剤、ドライパウダー製剤、溶液噴霧製剤、懸濁液噴霧製剤等が挙げられる。

本発明の気道内投与剤の有効成分として用いられる物質は、後述の試験例 1 に記載の方法により、SD系ラットにPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理的に許容される塩 (4mg/kg) を気道内投与し、肺組織内および血漿中の各AUC (それぞれ肺組織内および血漿中濃度一時間曲線下面積) を測定した場合、その肺組織内AUC (肺組織内濃度) が血漿中AUC (血漿中濃度) に対して350倍以上となるPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理的に許容される塩であればいずれでもよく、好ましくは500倍以上、より好ましくは1000倍以上、さらに好ましくは2000倍以上の濃度となる該PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理的に許容される塩が挙げられる。

【0015】

本発明の気道内投与剤の有効成分として用いられる物質のより具体的な例として、以下のような性質を有する物質が挙げられるが、本発明の気道内投与剤の有効成分として用いられる物質はこれらに限定されるものではない。なお、ここではPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理的に許容される塩を総称して物質とする。

【0016】

気道内投与された物質の経肺吸収が極めて緩やかであり、かつ循環血に移行した後、速やかに肝代謝を受けて不活性化され、一方消化管に遺漏した物質が腸管から吸収された後、肝臓で同様に速やかに代謝不活性化されるもの。

気道内投与された物質が肺固有の蛋白質に高い親和性を有し、その濃度平衡が大きく肺に偏るもの。

【0017】

気道内投与された物質の結晶が非常にゆっくりと溶解し、さらに経肺吸収が極めて緩やかであり、一方消化管に遺漏した物質が腸管から吸収されず、そのまま糞中に排泄されるもの。

気道内投与された物質の経肺吸収が極めて緩やかであり、かつ循環血に移行した後、速やかに抱合体を形成し排泄されるもの。

【0018】

気道内投与された物質の経肺吸収が極めて緩やかであり、かつ循環血に移行した後、速やかに血中酵素で代謝不活性化されるもの。

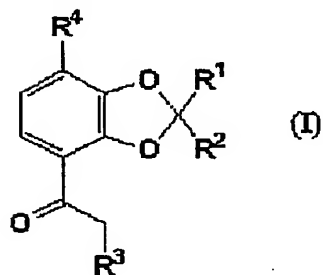
物質がプロドラッグ（活性の前駆体）であり、気道内投与された物質が肺内に特異的な酵素で代謝活性化され、一方消化管に遺漏した物質が代謝を受けずかつ腸管から吸収されず、そのまま糞中に排泄されるもの。

【0019】

さらに本発明の気道内投与剤の有効成分として用いられるPDEIV阻害作用を有する化合物の具体例として、例えばW096/36624に記載のベンゾフラン誘導体、1, 3-ベンゾジオキソール誘導体等が挙げられる、より具体的には、式(I)

【0020】

【化5】

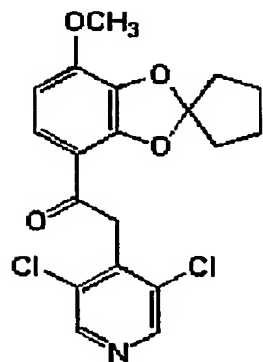


【0021】

(式中、R¹、R²、R³およびR⁴はそれぞれ前記と同義である) で表される化合物、中でもR³が置換もしくは非置換のピリジルである化合物、

【0022】

【化6】



【0023】

で表される 7- [2- (3, 5-ジクロロ-4-ピリジル) -1-オキソエチル] -4-メトキシスピロ [1, 3-ベンゾジオキソール-2, 1'-シクロペンタン] (以下、化合物 1 という) 等があげられるが、それらに限定されるものではない。

以下、式(I)で表される化合物を化合物(I)という。他の式番号の化合物についても同様である。

式(I)の各基の定義において、

低級アルキルおよび低級アルコキシの低級アルキル部分としては、例えば直鎖または分岐状の炭素数1~8のアルキルが挙げられ、具体的にはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル等が挙げられる。

【0024】

隣接する炭素原子と一緒に形成される飽和炭素環としては、例えば炭素数3~8のシクロアルカンが挙げられ、具体的にはシクロプロパン、シクロブタン、シクロペンタン、シクロヘキサン、シクロヘプタン、シクロオクタン等が挙げられる。

芳香族複素環基としては、例えば窒素原子、酸素原子および硫黄原子から選ばれる少なくとも1個の原子を含む5員または6員の単環性芳香族複素環基等が挙げられ、具体的にはピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピロリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、イミダゾリル、オキサゾリル、チアゾリル、チエニル、フリル等が挙げられる。

【0025】

置換芳香族複素環基および置換ピリジルにおける置換基としては、同一または異なって例えば置換基数1~3の低級アルコキシ、ハロゲン等が挙げられる。ここで示した低級アルコキシは前記と同義であり、ハロゲンはフッ素、塩素、臭素およびヨウ素の各原子を表す。

PDEIV阻害作用を有する化合物の薬理学的に許容される塩は、薬理学的に許容

される酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、アミノ酸付加塩等を包含する。

【0026】

PDEIV阻害作用を有する化合物の薬理学的に許容される酸付加塩としては、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩等の有機酸塩があげられ、薬理学的に許容される金属塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、亜鉛塩等があげられ、薬理学的に許容されるアンモニウム塩としては、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム等の塩があげられ、薬理学的に許容される有機アミン付加塩としては、モルホリン、ピペリジン等の付加塩があげられ、薬理学的に許容されるアミノ酸付加塩としては、グリシン、フェニルアラニン、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸等の付加塩があげられる。

【0027】

次に、化合物(I)の製造方法について説明する。

化合物(I)は、W096/36624に記載の方法により製造することができる。

化合物(I)には、互変異性体等の立体異性体が存在し得るが、本発明の気道内投与剤には、これらを含め、全ての可能な異性体およびそれらの混合物を使用することができる。

【0028】

化合物(I)の塩を取得したいとき、化合物(I)が塩の形で得られるときはそのまま精製すればよく、また、遊離の形で得られるときは、化合物(I)を適当な溶媒に溶解または懸濁し、酸または塩基を加えて単離、精製すればよい。

また、化合物(I)およびその薬理学的に許容される塩は、水または各種溶媒との付加物の形で存在することもあるが、これらの付加物も本発明の気道内投与剤に使用することができる。

【0029】

次に、本発明の気道内投与剤の効果について、試験例により具体的に説明する。

。

試験例 1: 気管支内投与における肺組織内濃度と血漿中濃度の推移 (SDラット)

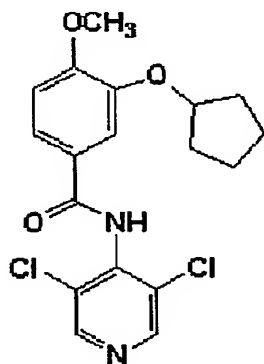
SD系の雄性ラット(日本チャールス・リバー、神奈川)を温度 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ の条件下で飼育し、7週齢で実験に供した。実験時のラットの体重が $210\sim 240\text{g}$ の範囲のものをを用いた。試験化合物の投与は非絶食下で行い、実験期間中、固形飼料(F-2, 船橋農場、千葉)および水道水を自由に摂取させた。実験例数は各時点 $n=2$ で行った。

投与液の調製

常法により、試験化合物の製剤(乳糖/試験化合物=5/1)およびRP73401

【0030】

【化7】



【0031】

の製剤(乳糖/RP73401=5/1)を調製し、0.125重量/容量% チロキサポール(アレベール:登録商標、日本商事、大阪)に懸濁した。得られた懸濁液をさらに0.25重量/容量%の乳糖(Pharmatose 325M:登録商標、DMV INTERNATIONAL, Veghel, Netherlands)を含む0.125重量/容量% チロキサポール(投与溶媒)で希釈し、目的濃度の試験化合物またはRP73401の投与用懸濁液を調製した。

【0032】

気管支内投与

試験化合物およびRP73401は、それぞれ投与量 4mg/kg で気管支内投与した。ディスポーザブル経口ゾンデ(マウス用、フチガミ器械店、京都)を用い、投与溶媒または試験化合物もしくはRP73401の投与用懸濁液をエーテル麻酔したラットの左右の気管支にそれぞれ $100\mu\text{L}$ ずつ、計 $200\mu\text{L}$ 気管支内投与した。

【0033】

採血および臓器の摘出

気管支内投与した後、0.25、0.5、1、2および4時間の各時点で軽度エーテル麻酔下のラットを開腹し、下行大静脈よりヘパリン処理した注射筒(24G、1mL、テルモ、東京)を用いて約1mL採血した。血液より冷却遠心分離機を用いて血漿を分離し、測定まで-20℃で凍結保存した。肺胞を洗浄した後、気管支を切除して肺を分取し、湿重量の測定を行い凍結保存した。

【0034】

血漿サンプルの調製と血漿中AUC(血漿中濃度)の測定

上記で採取した血漿100 μ Lに、25 μ g/mL 7-[2-(3,5-ジクロロ-4-ピリジル)-1-オキソエチル]-4-メトキシスピロ[1,3-ベンゾジオキソール-2,1'-シクロヘキサン](内部標準物質)のメタノール溶液200 μ Lを加え攪拌し、氷上で10分間放置した後、遠心分離し、その上清200 μ Lを窒素気流下で乾固した。得られた乾固物をメタノール200 μ Lに溶解し、遠心分離した。その上清を遠心式濾過ユニットウルトラフリー(C3GV,0.22 μ m,日本ミリポア、東京)で遠心濾過した。濾液100 μ Lを血漿サンプルとして、質量分析装置(LC/MS/MS)により試験化合物およびRP73401の濃度を測定した。

【0035】

肺サンプルの調製と肺組織内AUC(肺組織内濃度)の測定

イムノチューブ(15mL、Nunc、Glostrup、Denmark)中、上記で分取した肺に、予め肺組織(lung tissues)に対する内部標準物質の濃度が10 μ g/g lung tissuesとなるように内部標準物質を添加し、窒素気流下で乾固した。得られた乾固物に湿重量の1倍量の精製水(Milli-Q SP Reagent Water System、日本ミリポア、東京)を加え、ホモジネーター(池本理化工業、東京)によりホモジネートした。さらに2倍量のメタノールを添加してホモジネートした後、氷上で10分間放置し遠心分離した。その上清300 μ Lをマイクロチューブに取り、再度遠心分離した。その上清100 μ Lを肺サンプルとして、液体高速クロマトグラフィー(HPLC)により試験化合物およびRP73401の濃度を測定した。

化合物1を気管支内投与した場合、肺組織内AUC(肺組織内濃度)は3640mg/h/m

L、血漿中AUC（血漿中濃度）は0.733mg \cdot h/mLであり、肺組織内濃度が血漿中濃度に比べ4970倍高いことが判明した。また、生物学的半減期（ $T_{1/2}$ ）は3.81時間であった。

【0036】

一方、RP73401を気管支内投与した場合、肺組織内AUC（肺組織内濃度）は248mg \cdot h/mL、血漿中AUC（血漿中濃度）は0.826mg \cdot h/mLであり、肺組織内濃度が血漿中濃度に比べ300倍高いことが判明した。また、生物学的半減期（ $T_{1/2}$ ）は0.341時間であった。

【0037】

試験例2：気管支内投与による抗原誘発好酸球浸潤または抗原誘発好中球浸潤に対する効果（BNラット）

以下の試験は、公知の方法〔パルマナリー・ファルマコロジー（Pulmonary Pharmacology）、8巻、83-89頁（1995年）〕に準じて行った。

【0038】

実験には6週齢の雄性BNラット（日本チャールズリバー社供給）を使用した。なお、ラットは室温19～25℃、湿度30～70%、1日12時間照明（午前7時～午後7時）の飼育室にて、プラスチックケージに5～6匹ずつ収容し、市販の固形飼料と水を自由に摂取させて飼育した。

ラットに卵白アルブミン1mg（OVA、シグマ社製）および水酸化アルミニウム200mg（和光純薬社製）を生理食塩液1mL（大塚製薬工場社製）に懸濁したものを1mL皮下投与した後、百日咳死菌懸濁液0.5mL（ 2×10^{10} 個/1mL生理食塩液、科研製薬社製）を腹腔内投与することにより能動感作した。能動感作の14日後にプラスチックチャンバー（30×50×30cm）内にラットを入れ、1重量/容量% OVAの生理食塩液を10分間吸入させて抗原暴露を行った。吸入には超音波ネブライザー（オムロン社製）を使用した。

【0039】

試験化合物の投与用懸濁液の調製および気管支内投与は試験例1と同様の方法で実施した。抗原暴露の30分前に、投与溶媒または試験化合物の投与用懸濁液をラットの左右の気管支にそれぞれ100 μ Lずつ、計200 μ L気管支内投与した。感作

ラットに試験化合物またはRP73401の投与用懸濁液を気管支内投与し、1重量/容量% OVA-生理食塩液を吸入させた群を薬物添加群、感作ラットに投与溶媒を気管支内投与し、1重量/容量% OVA-生理食塩液を吸入させた群を溶媒投与群、感作ラットに投与溶媒を気管支内投与し、生理食塩液のみを吸入させた群を生理食塩液群とした。

【0040】

抗原暴露24時間後に気管支肺胞洗浄 (BAL) を実施した。すなわち、ラットをペントバルビタール (大日本製薬社製) 腹腔内投与により麻酔し、気管カニューレを介して生理食塩液で肺胞腔内を洗浄し、気管支肺胞洗浄液 (BALF) を得た。BALFを毎分950回転(200×g)、10分間、4℃の条件で遠心し、沈殿した細胞を生理食塩液1mLに懸濁した後、自動血球カウンター(日本光電社製)を用いて総白血球数を測定した。また、Cytospin III(Shandon社製)を用いて細胞の塗抹標本を作成した。塗抹標本をギムザ染色した後、光学顕微鏡にて細胞500個を観察し、好酸球および好中球の細胞数を数えてそれぞれ比率を算出した。好酸球数および好中球数は、総白血球数にそれぞれ好酸球数および好中球数のそれぞれの比率を掛け合わせて算出した。BALF中の好酸球数および好中球数の増加に対する抑制率(%)は下記にしたがって計算した。

【0041】

【数1】

抑制率(%)=

$$\frac{\text{溶媒投与群の好酸球数または好中球数} - \text{薬物添加群の好酸球数または好中球数}}{\text{溶媒投与群の好酸球数または好中球数} - \text{生理食塩液群の好酸球数または好中球数}} \times 100$$

【0042】

その結果をそれぞれ第1表および第2表に示す。なお好酸球数および好中球数の各値は平均値±標準誤差で示してある。

【0043】

【表 1】

第 1 表

投与群	投与量 (μ g/匹)	好酸球数 (10^6 /BALF)	抑制率 (%)
生理食塩液	-	0.02 ± 0.00	-
溶媒	-	$0.16 \pm 0.02^*$	-
化合物 1	30	0.09 ± 0.03	50
化合物 1	100	$0.04 \pm 0.01^{##}$	86

【0044】

*: $P < 0.001$ (生理食塩液群対比、Aspin-Welch検定)##: $P < 0.001$ (溶媒投与群対比、Dunnett検定)

【0045】

【表 2】

第 2 表

投与群	投与量 (μ g/匹)	好中球数 (10^6 /BALF)	抑制率 (%)
生理食塩液	-	0.26 ± 0.05	-
溶媒	-	1.11 ± 0.13	-
化合物 1	30	0.64 ± 0.14	56
化合物 1	100	$0.43 \pm 0.06^{\#}$	80

【0046】

#: $P < 0.01$ (溶媒投与群対比、Dunnett検定)

以上の結果、BNラットに化合物 1 を気管支内投与した場合、BALF中の好酸球数および好中球数は減少し、抗原誘発好酸球浸潤および抗原誘発好中球浸潤が抑制されることが判明した。一方、本評価系は、例えばヒトの喘息における病態の一部を再現するものとして知られていることから、化合物 1 はヒトの喘息に有効であると考えられる。

【0047】

試験例 3: 気管支内投与による胃排出抑制作用 (SDラット)

実験には雄性SDラット (6週齢、入荷時体重は180g-200g; 日本エスエルシー) を使用した。ラットは室温 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の動物室で固形飼料および飲料

水を自由に摂取させて飼育した。

試験化合物またはRP73401の投与用懸濁液の調製および気管支内投与は試験例 1 と同様の方法で実施した。

【 0 0 4 8 】

胃排出試験

ラット(実験使用時の体重は約200g)は実験の前日(約24時間前)に絶食を施し、飲料水のみで飼育した。胃排出試験はフェノールレッド法[アーカイブス・インターナショナル・ファルマコジン(Arch. Int. Pharmacodyn)、246巻、286-294ページ(1980年)]により実施した。

【 0 0 4 9 】

1群6匹のラットに0.05重量/容量%フェノールレッドを含む1.5重量/容量%カルボキシメチルセルロース(CMC)溶液(以下、P-C液という)1.5 mLを経口投与した。経口投与の15分後にラットを屠殺して速やかに開腹した後、十二指腸の一部を含む胃部を全摘出した。摘出した胃を0.1mol/L NaOH水溶液40mL中で切開してP-C液を回収し、胃内に残存するフェノールレッド量を測定した。すなわち、回収した胃内P-C液の1mLを7.5重量/容量%トリクロル酢酸(TCA)水溶液2mLと混合し、遠心分離した後、その上清2mLを1mol/L NaOH水溶液2mLと混和してオートシッパーフォトメーター(560 nm: U-1080, 日立製作所, 東京)にて吸光度(OD値)を測定した。試験化合物またはRP73401の投与用懸濁液はP-C液を経口投与する30分前に気管支内投与した(薬物投与群)。同様に陽性対照群では投与用懸濁液の代わりに投与溶媒を気管支内投与した。陰性対照群では投与溶媒を気管支内投与し、かつP-C液を経口投与した直後に胃内容物を回収した。薬物投与時または投与溶媒投与時の胃排出率(%)の算出は下式(1)より求め、薬物の胃排出に対する抑制率(%)は胃排出率から下式(2)より求めた。その結果を図1に示す。

【 0 0 5 0 】

【数 2】

$$(1) \text{ 胃排出率(\%) = } 1 - \frac{\text{陽性対照群または薬物投与群のOD値}}{\text{陰性対照群のOD値の平均値}} \times 100$$

$$(2) \text{ 胃排出に対する抑制率(\%) = } 1 - \frac{\text{薬物投与群の胃排出率}}{\text{陽性対照群の胃排出率の平均値}} \times 100$$

【0051】

以上の結果、化合物 1 を気管支内投与した場合、試験例 2 で示された薬効用量範囲（30-100 μ g/匹）では、胃排出に対する抑制作用は認められなかった。

一方、RP73401 を気管支内投与した場合、同薬効用量範囲（30-100 μ g/匹）で、胃排出に対する用量依存的な抑制作用が観察された。

以上のことから、化合物 1 を気道内投与した場合、従来のPDEIV阻害剤が有する副作用である嘔吐を回避できると考えられる。

【0052】

以上、試験例 1～3 の結果を総合すると、気管支内投与した場合、肺組織内AUC（肺組織内濃度）と血漿中AUC（血漿中濃度）の比が4970倍となる化合物 1 は、消化管系に対する作用をほとんど引き起こすことなく、肺での薬効を実現できることが証明された。一方、気管支内投与した場合、肺組織内濃度と血漿中濃度の比が300倍となるRP73401においては、呼吸器での薬効用量で消化管への作用を引き起こした。このことから肺組織濃度と血漿中濃度の比に相関して、呼吸器系での薬理効果と消化器系での薬理効果が乖離することが確認された。

【0053】

本発明に係わる気道内投与剤は、気道内投与された場合、肺組織内濃度が血漿中濃度に対して350倍以上、好ましくは500倍以上、より好ましくは1000倍以上、さらに好ましくは2000倍以上の濃度となるPDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩をそのまま単独で投与することも可能であるが、通常各種の医薬製剤として提供するのが望ましい。また、それら医薬製剤は、動物および人に使用されるものである。

【0054】

本発明に係わる医薬製剤は、任意の他の治療上有効である1つまたは2つ以上の他の有効成分との混合物として使用することもできる。またそれら医薬製剤は、活性成分を薬理学的に許容される一種もしくはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られている任意の方法により製造される。

投与経路としては、治療に際し最も効果的なものを使用するのが望ましく、例えば吸入、点鼻等の気道内投与方法が挙げられる。

【0055】

投与形態としては、例えばドライパウダー製剤、エアロゾル製剤、吸入製剤等が挙げられる。

エアロゾル製剤または吸入製剤は活性成分を粉末状、液状または懸濁状にして、吸入噴射剤または担体中に配合し、適当な吸入容器に充填することにより製造される。また上記活性成分が粉末の場合は通常の機械的粉末吸入器を、液状または懸濁状の場合はネブライザー等の吸入器をそれぞれ使用することもできる。該吸入噴射剤としては従来公知のものを広く使用でき、フロンー11、フロンー12、フロンー21、フロンー22、フロンー113、フロンー114、フロンー123、フロンー142c、フロンー134a、フロンー227、フロンーC318、1,1,1,2-テトラフルオロエタン等のフロン系化合物、プロパン、イソブタン、n-ブタン等の炭化水素類、ジエチルエーテル等のエーテル類、窒素ガス、炭酸ガス等の圧縮ガス等を例示でき、懸濁状の製剤の場合はソルビタントリオーレート等の懸濁補助剤を添加してもよい。

【0056】

ドライパウダー製剤は、ドライパウダー吸入器を使用する粉末状の吸入用製剤であり、気道内に到達させるために、微細化された活性成分を、微粒子として吸入させることを特徴としている。微細化された活性成分の粒子径は、 $1\mu\text{m}$ ~ $6\mu\text{m}$ の範囲であることが好ましいことが知られており〔インターナショナル・ジャーナル・オブ・ファーマシューティクス (Int. J. Pharm.)、101巻、1-13ページ (1994年)〕、活性成分の微細化方法としては、一般的な粉碎方法を適用することができる。粉碎方法は特に限定されず、当該分野において周知の方法を用いることができる。例えば、乳鉢粉碎、ボールミル粉碎、ハンマーミル粉碎、流体

エネルギー粉碎（例えばジェットミル粉碎）等が挙げられる。

【0057】

また、ドライパウダー製剤は、粉碎された活性成分の凝集を抑制し、気道内への到達率を向上させるためのキャリア粒子を含有していてもよい。微細化された活性成分は、キャリア粒子表面に付着していることにより凝集が抑制され、吸入時にキャリアから離れ気道内に送達される。キャリア粒子としては、糖類、糖アルコール類等が例示され、具体的には乳糖、D-マンニトール等が挙げられる。キャリア粒子の粒子径は $20\mu\text{m}$ ～ $150\mu\text{m}$ の範囲であることが効果的であり、さらに $50\mu\text{m}$ ～ $100\mu\text{m}$ の範囲であることがより効果的である。また、キャリア粒子は、吸入時にキャリア粒子からの活性成分粒子の離脱を促進するため、ボールミルなどを用いた表面処理がなされていてもよい。

【0058】

また、ドライパウダー製剤は、微細化された活性成分の凝集を抑制するためや、吸入時にキャリア粒子表面からの活性成分粒子の離脱を促進するための添加剤を含有していてもよい。該添加剤としては糖類、糖アルコール類等が例示され、具体的には乳糖、D-マンニトール等が挙げられる。

ドライパウダー製剤の製剤全重量に対する活性成分の量は、好ましくは0.5重量%～50重量%、より好ましくは1.0重量%～30重量%である

また、上記各製剤には、乳糖、マンニット等の賦形剤、澱粉等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤、大豆レシチン、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等から選択される1種もしくはそれ以上の補助成分を添加することもできる。

【0059】

化合物（I）またはその薬理学的に許容される塩の投与量および投与回数は、投与形態、患者の年齢、体重、治療すべき症状の性質もしくは重篤度等により異なるが、通常成人一人当たり $1\mu\text{g}$ ～1000mg、好ましくは0.05～100mg、より好ましくは0.01～20mgを一日一回ないし数回投与する。しかしながら、これら投与量および投与回数に関しては、前述の種々の条件により変動する。

【0060】

以下に、本発明の態様を実施例で説明する。

【0061】

【実施例】

実施例 1：ドライパウダー製剤

ジェットミル (A-0 JET；セイシン企業) を用いて、化合物 1 10g を空気圧 5kg/cm² で 1.5g/分の送り速度で粉碎した (体積平均粒子径：5.7 μm)。得られた化合物 1 の粉碎物と乳糖 (Pharmatose 325M：登録商標、DMV INTERNATIONAL, Veghel, Netheland) とを重量比 1：5 で混合し、ドライパウダー製剤を得た。該製剤は慣用のドライパウダー吸入器により、投与可能である。

【0062】

実施例 2：ドライパウダー製剤

実施例 1 で得られた化合物 1 の粉碎物と乳糖 (Pharmatose 325M：登録商標、DMV INTERNATIONAL, Veghel, Netheland) とを重量比 1：50 で混合し、ドライパウダー製剤を得た。該製剤は慣用のドライパウダー吸入器により、投与可能である。

【0063】

実施例 3：吸入剤

実施例 1 で得られた化合物 1 の粉碎物 100mg を液化ジクロロフルオロメタン (フロンー 21) 3mL と液化トリクロロフルオロメタン (フロンー 11) 2mL の混合液に懸濁し、慣用のエアロゾル噴霧器 (1回噴霧量 50 μL) に充填し、吸入剤を得る。

【0064】

実施例 4：吸入剤

実施例 1 で得られた化合物 1 の粉碎物 100mg および大豆レシチン 50mg を液化ジクロロフルオロメタン (フロンー 21) 3mL と液化トリクロロフルオロメタン (フロンー 11) 2mL の混合液に懸濁し、慣用のエアロゾル噴霧器 (1回噴霧量 50 μL) に充填し、吸入剤を得る。

【0065】

実施例 5：吸入剤

実施例 1 で得られた化合物 1 の粉碎物 100mg をソルビタントリオーレート 100mg

およびフロンー 11 10gに懸濁させる。得られた懸濁液を安全な噴霧混合液（フロンー 11 / フロンー 114）50gに-50℃で分散し、慣用のエアロゾル噴霧器に充填し、吸入剤を得る。

【0066】

実施例 6：水性懸濁吸入剤

水とエタノール（1：1）の混合溶液5mLに化合物 1 1mgを溶解させ、無菌ミリポアフィルター（孔径0.2 μ m）でろ過し、噴霧用製剤を得る。該製剤は慣用の噴霧器（ネプライザー）により投与可能である。

【0067】

【発明の効果】

本発明により、PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有し、かつ気道系への薬理効果と消化器系への薬理効果の分離が可能な気道内投与剤が提供される。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

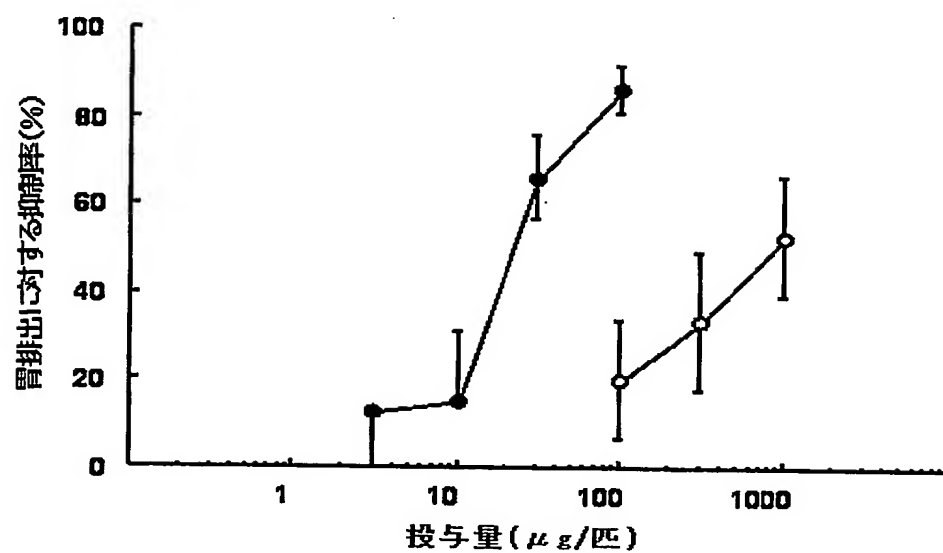
図 1 は、化合物 1 およびRP73401の投与量と胃排出に対する抑制率の相関を示したものである。縦軸は胃排出に対する抑制率(%)を表し、横軸は投与量(μ g/匹)を表す。

【符号の説明】

- ：化合物 1 の胃排出に対する抑制率(%)
- ：RP73401の胃排出に対する抑制率(%)

【書類名】 図面

【図 1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有し、かつ気道系への薬理効果と消化器系への薬理効果の分離が可能な気道内投与剤を提供すること。

【解決手段】 気道内投与された場合のホスホジエステラーゼ (PDE) IV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩の肺組織内濃度が、その血漿中濃度に対して350倍以上となる該PDEIV阻害作用を有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する気道内投与剤を提供する。また該PDEIV阻害作用を有する化合物が、例えばベンゾフラン誘導体、1, 3-ベンゾジオキソール誘導体等である気道内投与剤を提供する。

【選択図】 なし

特願 2003-094505

出願人履歴情報

識別番号

[000001029]

1. 変更年月日

1990年 8月 6日

[変更理由]

新規登録

住所

東京都千代田区大手町1丁目6番1号

氏名

協和醗酵工業株式会社